



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

ANÀLISI DE L'EFECTE DEL CLOR A LES LARVES DE MOSCARD TIGRE (*AEDES ALBOPICTUS*)

Lluís Forteza Ilull

Grau de Biologia

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2019-20

ANÀLISI DE L'EFECTE DEL CLOR A LES LARVES DE MOSCARD TIGRE (*Aedes albopictus*)

Lluís Forteza Llull

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2019-20

Paraules clau del treball:

Aedes albopictus, clor, larves, LC99, moscard tigre.

Tutor del Treball Dr. Miguel Ángel Miranda Chueca

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Índex:

Índex:	1
Resum:	2
Abstract:	2
Paraules clau:	2
Introducció:	3
Morfologia i cicle biològic.	3
Arribada a Mallorca.	7
Problemàtica associada.	9
Mètodes de control i prevenció.	10
Objectiu:	13
Metodologia:	13
Establiment de la colònia.	13
Anàlisi del clor en les larves L4.	14
Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.	15
Durabilitat del clor en l'aigua.	15
Anàlisi estadístics.	17
Resultats:	17
Anàlisi del clor en les larves L4.	17
Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.	20
Durabilitat del clor en l'aigua.	20
Discussió:	22
Anàlisi del clor en les larves L4.	22
Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.	22
Lleixiu domèstic.	23
Durabilitat del clor en l'aigua.	24
Conclusions:	25
Agraïments:	25
Bibliografia:	25

Resum:

El moscard tigre, *Aedes albopictus*, és un insecte invasor originari de les zones tropicals del sud-est asiàtic. La primera detecció d'aquesta espècie a Espanya es va produir el 2004, a Sant Cugat del Vallès (Barcelona) i 8 anys després, al 2012, es va detectar a l'illa de Mallorca (Illes Balears). El moscard tigre és una espècie d'interès sanitari, ja que a més de reduir la nostra qualitat de vida per les molestes picades, pot actuar com a vector de arbovirosis com ara dengue, chikungunya o Zika entre d'altres. El millor moment del seu cicle vital per realitzar un control d'aquesta espècie és la seva fase larvària, ja que necessiten aigua per poder desenvolupar-se. La primera acció per al control larvari ha de ser la retirada mecànica dels focus de cria, però en aquells focus de cria que no poden ser eliminats es poden aplicar productes que matin a les larves o modifiquin l'entorn. Hem estudiat l'efecte del clor lliure en la mortalitat directa causada a larves d'*Aedes albopictus* seguint la metodologia descrita per l'OMS per calcular la CL50 i CL99. Es va emprar la F1 d'una població els ous dels quals van ser recollits en ovitrampes disperses per tot Mallorca. La CL50 ha estat de 65 ppm i la CL99 ha estat de 576 ppm, el que significaria que aplicant 3.6 ml de clor de solució 160 g/l en 1 L d'aigua podríem matar la pràctica totalitat de larves. L'ús de clor per matar larves de moscard tigre hauria d'usar-se en última instància, ja que és un producte generalista no registrat per a aquesta finalitat, però és econòmic i fàcilment accessible al públic en general.

Abstract:

The Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, is an invasive mosquito original from the tropical areas of Southeast Asia. The first detection of this species in Spain occurred in 2004, in Sant Cugat del Vallés (Barcelona) and 8 years later, in 2012 it was detected on the island of Mallorca (Balearic Islands). The tiger mosquito is a species of sanitary interest, since to reduce our quality of life due to its annoying bites, it can act as a vector for arboviruses such as dengue, chikungunya or Zika, among others. The best time in their life cycle to control this species is its larval phase, as they need water to develop. The first action for larval control must be the mechanical removal of the breeding foci, but in those breeding foci that cannot be eliminated, products that kill the larvae or modify the environment can be applied. We have studied the effect of free chlorine on direct mortality caused to larvae of *Aedes albopictus* following the methodology described by the WHO to calculate the CL50 and CL99. The F1 of a population whose eggs were collected in egg traps scattered throughout Mallorca was used. The LC50 has been 65 ppm and the LC99 has been 576 ppm, which would mean that applying 3.6 ml of chlorine solution 160 g/l in 1 L of water could kill practically all larvae. The use of chlorine to kill tiger mosquito larvae should be used as a last resort, as it is an unregistered generalist product for this purpose, but is inexpensive and easily accessible to the general public.

Paraules clau:

Aedes albopictus, clor, larves, LC99, moscard tigre.

Introducció:

El moscard tigre, *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894), és un dípter de la família Culicidae, originari dels boscos tropicals de el sud-est asiàtic. En les últimes tres dècades s'ha expandit a nivell mundial a través del transport passiu dels seus ous en pneumàtics usats (Knudsen, 1995) o bambú de la sort (*Dracaena* spp.) (Madon et al., 2002; Scholte et al., 2008) i possiblement també a través del transport de passatgers (Eritja et al., 2017). De fet, és considerada una de les 100 espècies amb major potencial invasor (Lowe S. et al., 2000). A Espanya se'l considera un moscard exòtic invasor. El seu èxit rau en la gran capacitat de colonitzar nous entorns, adaptant-se a elements antropogènics, i tenint una elevada plasticitat climàtica entre d'altres factors (Bonizzoni et al., 2013). A més de ser una espècie invasora, *Aedes albopictus* és un vector competent de diverses arbovirosis com el dengue, chikungunya o Zika, havent intervingut en brots epidemiològics a Europa i a Espanya (ECDC, 2016). Per tot això és una espècie que ha de ser controlada, potenciant el control larvari.

Morfologia i cicle biològic.

L'*Aedes albopictus* és un moscard d'ambients fitotelmàtics, criant originàriament en els buits dels arbres que s'omplen d'aigua (Becker, 2010). Se'l considera un moscard de distribució periurbana, ja que la seva flexibilitat ecològica li permet utilitzar petits receptacles artificials on s'acumuli petites quantitats d'aigua per criar (AR Meena i NL Choudhary, 2019). Sol colonitzar testos de cementiri, banys d'ocells, llaunes de refrescos, embornals, fonts ornamentals, recipients d'aigua abandonats i un llarg etcètera (figura 1). Els pneumàtics són particularment útils per a la reproducció de moscards, ja que sovint s'emmagatzemen a l'aire lliure i recullen i retenen l'aigua de pluja durant molt de temps. L'addició de fulles en descomposició dels arbres veïns produeix condicions químiques similars als forats dels arbres, el que proporciona un substrat excel·lent per a la reproducció (Moore, 1999).



Figura 1. Diferents recipients amb aigua ideals per criar el moscard tigre.

L'activitat de l'espècie depèn sobretot de la temperatura ambiental. El cicle biològic es porta a terme entre temperatures ideals d'entre 20°C i 30°C i dura entre 7 i 30 dies. El moscard té quatre etapes de vida diferents, que consisteixen en ou, larva, pupa i adult (figura 2). Les primeres tres etapes es desenvolupen en l'aigua.

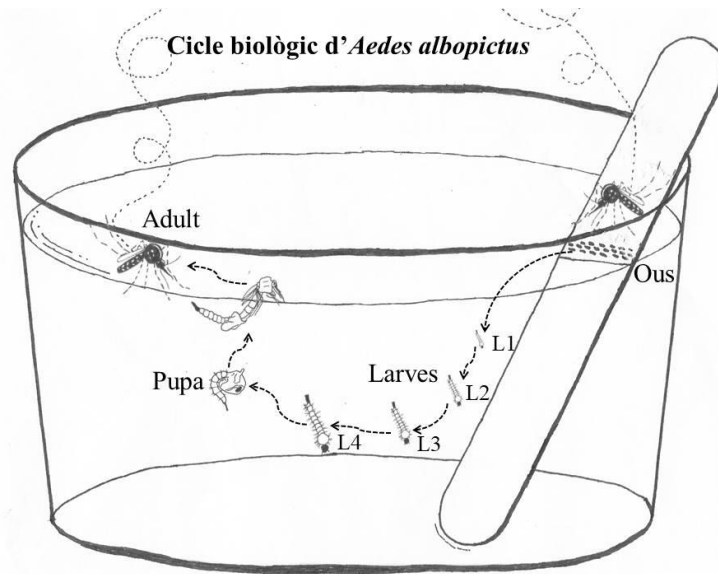


Figura 2. Cicle biològic d'*Aedes albopictus*.

L'adult és l'imago volador, presenta una coloració completament negra amb línies blanques a potes i abdomen. Aquest patró ratllat no és el causant de l'àlies de Moscard Tigre, sinó que el seu nom li prové de la seva aguait entre la vegetació i la seva agressivitat. La característica que destaca per identificar-lo és una única banda blanca distintiva en la longitud del tòrax, al escudet (figura 3). Són relativament petits, amb aproximadament 5 mm de llarg, i incloent les potes pot arribar als 10 mm (figura 4). Comparativament són més petits que els moscards habituals de Mallorca com el *Culex pipiens* o l'*Aedes caspius*. Tenen un aparell bucal allargat amb el qual s'alimenta de nèctar de plantes (Lutz, 2002). Les femelles presenten una hematofàgia obligatòria per produir ous, i encara que és una espècie oportunista se sol alimentar habitualment sobre humans (Muñoz et al., 2011). Aquestes picades poden produir reaccions al·lèrgiques severes i redueixen la qualitat de vida de les persones (Halasa et al., 2014). És un moscard actiu en les hores diürnes, si bé el seu màxim d'activitat es localitza durant l'alba i el capvespre.

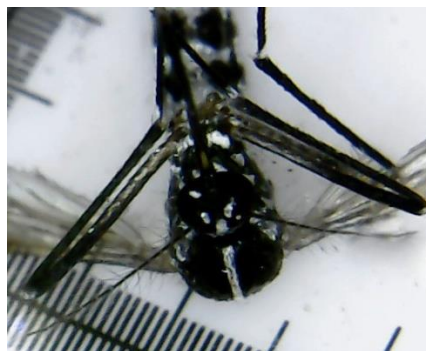


Figura 3. Detall de la vista dorsal del tòrax i del cap d'un adult d'*Aedes albopictus*.



Figura 4. Adult d'*Aedes albopictus*.

Les femelles dipositen els seus ous sobre superfícies molt properes a l'aigua, a l'espera que un augment en el nivell de l'aigua (bé sigui per pluja o per reg) els inundi. Per tant els seus ous són resistents a la dessecació i poden aguantar llargs períodes de temps sense aigua, així com entrar en diapausa durant els mesos freds (d'octubre a març) (Mori et al., 1981), arribant a dipositar entre 100 i 120 ous per femella (figura 5). Una femella pot arribar a realitzar fins a quatre cicles gonotròfics, encara que el més habitual és que en realitzi únicament un (ISSG 2004). Les poblacions tropicals i subtropicals estan actives durant tot l'any sense fase de diapausa. En el mediterrani, el període reproductiu ocorre de març a novembre, però s'han detectat femelles ovipositant al desembre, si bé el seu pic de oviposició es dona des de mitjans de juliol fins a finals de tardor, a causa d'un clima temperat i plujós (Di Luca et al., 2001, en Eritja et al., 2005). A l'hivern, la combinació de fotoperíodes curts i baixes temperatures indueix a les femelles a produir ous que entraran en diapausa, coneguda com diapausa facultativa, la qual és necessària per sobreviure a l'hivern i així resistir les temperatures més baixes (Hanson i Craig, 1995; Eritja et al., 2005). Els ous són de color fosc, allargats amb els extrems punxeguts i presenten una cutícula gruixuda i resistent (Figura 6).



Figura 5. Diferents postes d'ous, predominen els ous sobre la línia de l'aigua.

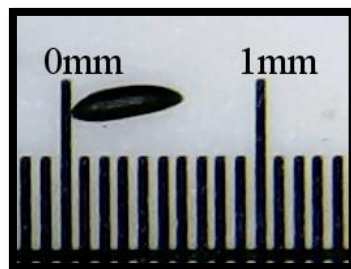


Figura 6. Ou d'*Aedes albopictus*.

La fase larvària d'*Aedes albopictus*, a l'igual que la resta dels culícids, necessita l'aigua per poder sobreviure. Per això no es dona l'eclosió dels ous fins que aquests són coberts per aigua. Les larves respiren aire atmosfèric a través d'una estructura anomenada sífó que es troba a l'extrem dels seus abdòmens. El sífó té gran valor per permetre la identificació de les larves, i en el cas del gènere *Aedes* és molt fosc i més curt que el *Culex*. Les larves s'alimenten de matèria orgànica, la qual filtren i mosseguen amb les seves peces bucal. Les larves passen per quatre estadis larvaris (L1-L4) (figura 7) que els permeten augmentar de mida. El desenvolupament larvari té una durada de 4 a 14 dies. Després del quart estadi larvari la larva es transforma en pupa, en la qual es produeix la metamorfosi. La pupa no s'alimenta, però respira a través de dues trompetes respiratòries que presenta al tòrax (figura 8). El moscard adult emergeix de la pupa.



Figura 7. Diferents estats de larves d'*Aedes albopictus* L1, L2, L3 i L4.

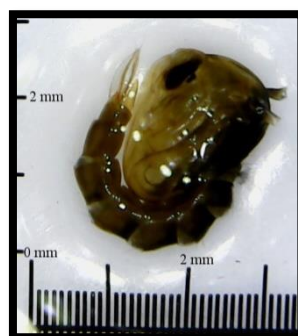


Figura 8. Pupa d'*Aedes albopictus*.

Arribada a Mallorca.

A l'agost de 1979, es va detectar per primera vegada l'*Aedes albopictus* a Europa, concretament a Albània (Adhami, 1998). L'espècie probablement es va introduir des de la Xina a mitjans de la dècada de 1970 a través del comerç dels pneumàtics usats. La infestació inicial va ser probablement en una fàbrica de cautxú adjacent al port de Durrës (Durazzo), des d'on pneumàtics amb ous de moscards tigre s'enviaven a plantes de recautxutatge d'altres parts del país. Des de llavors, s'ha estès per la majoria d'Europa (Gratz, 2004) i actualment s'ha establert en 22 països europeus (figura 9).

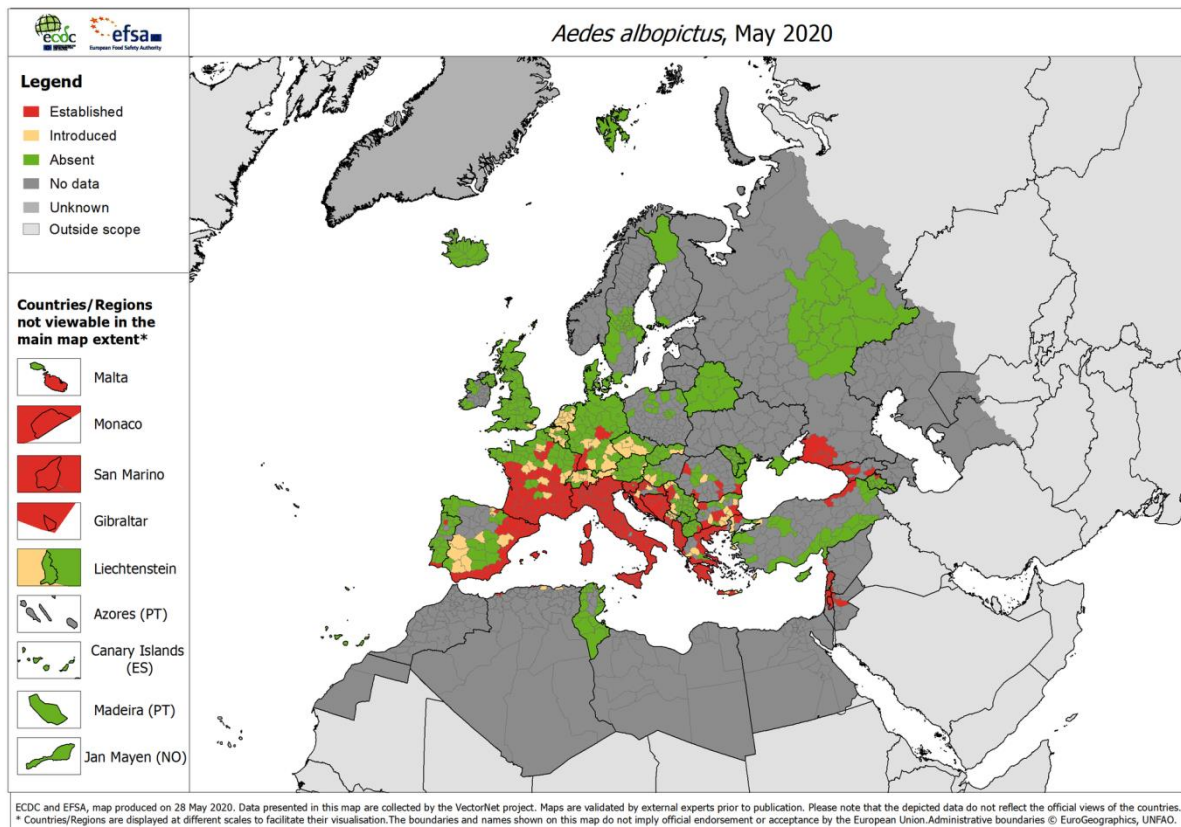


Figura 9. Al mapa es mostra la distribució d'*Aedes albopictus* a Europa (ECDC 2020).

A l'agost del 2004, el moscard tigre va ser detectat per primera vegada a Espanya, més concretament a Sant Cugat del Vallès (Barcelona) pel Servei de Control de Moscards del Baix Llobregat (Aranda, 2006). Es van recollir un mascle i una larva al pati del darrere d'una casa i en un forat d'un arbre, respectivament. Posteriorment es van trobar poblacions denses d'adults i larves, el que confirma l'establiment de l'espècie a l'àrea. Aquest és el primer informe de l'establiment d'aquesta espècie a la Península Ibèrica. Posteriorment, s'ha registrat al llarg de la costa mediterrània de la Península Ibèrica fins a Alacant (Roiz, 2007), Castelló (Delacour-Estrella, 2010), Múrcia (Collantes i Delgado, 2011), València (Alarcon-Elbal, 2013), Andalusia (Delacour-Estrella, 2014) i al País Basc (Delacour, 2015). En treballs recents de Collantes et al. (2015) s'ha descrit la capacitat d'expansió d'*Aedes albopictus* a Espanya 10 anys després de la seva primera detecció (figura 10). A Espanya *Aedes albopictus* està inclosa en el Catàleg d'espècies exòtiques invasores (Reial Decret 630/2013, de 2 d'agost).

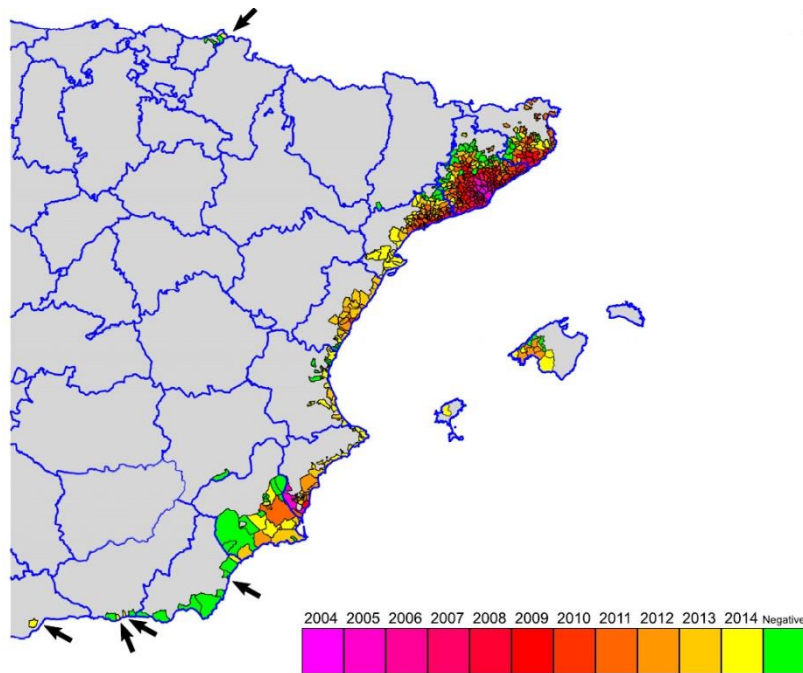


Figura 10. Distribució coneguda d'*Aedes albopictus* a Espanya per anys (2004-2014). Les fletxes marquen petits municipis positius aïllats. El color verd significa negatius en 2014. El color gris significa que aquestes àrees en 2014 no es van estudiar. (Collantes et al., 2015).

El 2012 el moscard tigre també es va detectar a les Illes Balears, més concretament a Mallorca (Miquel, 2013), per tant, les àrees geogràficament aïllades com les illes no brinden protecció contra la invasió d'*Aedes albopictus*, ja que el transport de mercaderies sembla ser la principal via d'entrada a noves àrees (Miquel, 2013; Barceló, 2014). El Laboratori de Zoologia de la Universitat de les Illes Balears va realitzar un mostreig amb trapes de oviposició i d'adults als voltants de la zona residencial de Bunyola, Palma, Marratxí i Esporles, cobrint així un radi de 4 km des del primer focus a Cas Binissalemer (Bunyola, Mallorca). Els quatre municipis mostrejats van resultar positius (Miquel, 2013). Més endavant van seguir mostrejant nous municipis de Mallorca, resultant Calvià també positiu. Actualment ja s'ha verificat la seva presència per gairebé tot Mallorca (figura 11), però com que no es mostregen tots els municipis no podem verificar la seva expansió actual. També està present a Eivissa (Barceló, 2014) i Menorca (Bengoia et al., 2016).

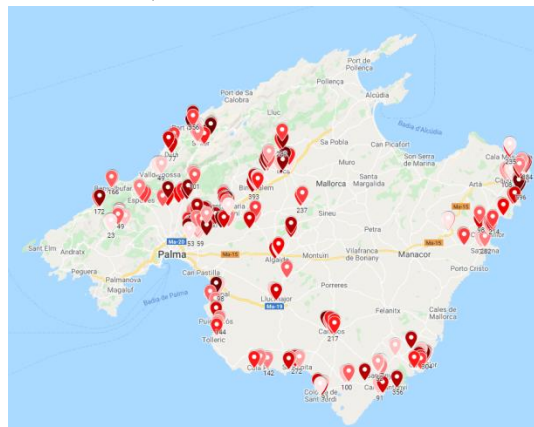


Figura 11. Ovitrapes posades a Mallorca per Consultoria Moscard Tigre al 2018. Punt vermell trampa positiva, hi ha presència de moscard tigre.

Problemàtica associada.

Aedes en grec vol dir molest, insistent, i aquestes qualitats descriuen perfectament el comportament d'*Aedes albopictus* a l'alimentar-se de les persones. Té activitat diürna, amb un pic d'activitat al dia, i un altre més intens al capvespre. Per tant, comparteix amb els humans períodes d'activitat, i nosaltres som la seva principal font d'aliment (Paupy, 2009). No recorre llargues distàncies volant, uns 120 metres per dia, encara que generalment es queda al voltant dels 50 metres d'on ha emergit l'adult (Marini et al., 2010). Tampoc vola alt, de manera que les seves picades principalment les realitza per sota del genoll. El estilet, les peces bucals modificades del moscard tigre per tal de penetrar a la pell i realitzar la ingesta de sang (aparell bucal picador-xuclador), pot fins i tot traspasar la roba per alimentar-se. Quan el moscard realitza la picada, primerament injecta la seva saliva al torrent sanguini, la qual conté una barreja d'anestèsics, anticoagulants i vasodilatadors que provoca una reacció al·lèrgica davant d'aquesta substància tòxica, provocant reaccions cutànies molt doloroses i manifestant-se com envermelliment de la pell i picor que en alguns casos necessiten ser tractades per personal mèdic. Les molèsties causades per les seves picades redueix la qualitat de vida de les persones afectades (Abramides, 2011) produint importants pèrdues econòmiques en els sectors turístics. També s'ha relacionat amb una reducció en el temps d'activitat física a l'aire lliure dels nins, un factor que contribueix a l'obesitat infantil (Worobey, 2013).

Tot i que actualment a Espanya el principal problema associat al moscard tigre són les seves picades, cal tenir molt present que *Aedes albopictus* és un vector eficaç de diverses arbovirosis com el dengue, el chikungunya o el Zika (ECDC, 2016). Recentment s'han produït casos aïllats de la transmissió d'aquests virus a Europa en què *Aedes albopictus* ha actuat com a vector. El 2007 es va donar per primera vegada un brot de chikungunya a la província d'Emilia-Romagna a Itàlia (Bonilauri, 2008). Els primers casos autòctons de dengue registrats a Europa van aparèixer a França durant el setembre del 2010 (La Ruche, 2010) seguits per altres a Croàcia aproximadament al mateix temps (Gjenero-Margan, 2011). La capacitat infectiva trasovàrica del dengue augmenta la capacitat de propagació d'aquesta malaltia (Buhagiar, 2009). Es considera que, en funció de la temperatura, els països del sud d'Europa corren el major risc de transmissió de virus chikungunya (Tilston, 2009).

A part de ser vector d'aquestes malalties, *Aedes albopictus* pot transmetre experimentalment almenys altres 22 arbovirus, el virus de la febre de la Vall del Rift, el virus de l'encefalitis, el virus del Nil Occidental, el virus Sindbis, el virus Potosi, el virus Cache Valley, el virus La Crosse, el virus Mayaro, el virus del riu Ross, el virus Oropouche, el virus Jamestown Canyon, el virus Sant Angelo i el virus Trivittatus (Medlock, 2015). Així mateix és vector de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), *Dirofilaria repens* (Railliet i Henry, 1911), i *Setaria labiatopapillosa* (Perroncito, 1882).

Per tant, el control d'aquesta espècie és rellevant no només per tractar-se d'una espècie invasora, sinó també pel seu important paper com a vector de patògens que causen malalties humanes.

Mètodes de control i prevenció.

Evitar la introducció d'*Aedes albopictus* en una regió és una tasca complicada, ja que s'ha intentat en diversos països del món sense èxit, com a Amèrica de Sud i Espanya (Eritja et al., 2005). La globalització, que afavoreix un comerç internacional a gran escala, és utilitzada per *Aedes albopictus* per colonitzar nous territoris i les estratègies de control en aquests punts calents són molt difícils a causa de la varietat de focus de cria que pot emprar. Als Països Baixos per exemple, les empreses hortícoles han pres mesures per reduir el risc, realitzant tractaments larvaris abans que els enviaments amb aigua surtin de la Xina (Enserink, 2008).

És fàcil predir en quines zones serà més possible la propagació d'*Aedes albopictus*, pel que pot ser important que en aquestes zones les autoritats prenguin mesures preventives. Les àrees de risc tindrien temperatures mitjanes d'hivern de 0°C i temperatures de mitjana d'estiu de 20°C i al menys 500 mm de pluja per any (Eritja et al., 2005).

Les directrius marcades per la ECDC (European Centre for Disease prevention and Control) per a la vigilància de moscards invasors (ECDC, 2012), són una bona mesura per fer un seguiment d'aquestes espècies i reduir el risc de transmissió de malalties. Les mesures de prevenció i control tenen la finalitat d'evitar la proliferació d'aquests moscards i reduir la seva abundància.

Una vegada que el moscard *Aedes albopictus* és detectat, a l'igual que amb la resta d'espècies d'interès sanitari s'ha d'implantar un sistema de control integrat de vectors. En el cas d'*Aedes albopictus* aquest control es basa en la reducció dels focus de desenvolupament larvari, integrant mesures preventives de control mecànic, físic, biològic i químic. Les mesures més efectives són les que eviten la posta d'ous i el desenvolupament de les larves.

Control mecànic: Un estudi a Catalunya, va demostrar que l'ús d'estratègies d'intervenció de multireducció de fonts de reproducció, la neteja d'abocadors no controlats i la cooperació ciutadana van ser reeixides per frenar la població, es va produir una gran reducció en el nombre d'ous (Abramides, 2011). Atès que el moscard tigre posa els seus ous en petits cúmuls d'aigua, la retirada d'aquests recipients com els de la figura 1 suposarà la interrupció del seu desenvolupament larvari. El moscard tigre té unes necessitats hídriques molt reduïdes, sent capaç de tancar el cicle en un tap de plàstic si manté aigua durant tot el seu cicle larvari, de manera que la varietat de recipients que hem d'eliminar és molt elevada. Una altra acció de control mecànic és tapar hermèticament els dipòsits d'aigua amb una tapa o una tela mosquitera, o fins i tot els embornals, de tal manera que els moscards no puguin accedir a posar els seus ous (figura 12). Una altra possible acció de control mecànic seria la instal·lació d'una bomba en un estany, de tal manera que l'aigua a l'estar en moviment impedeixi la oviposició, encara que aquesta mesura ha de ser verificada (figura 13).

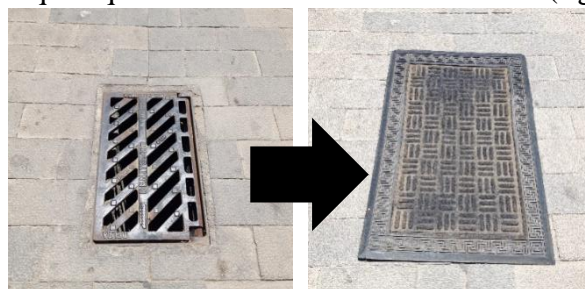


Figura 12. Un embornal tapat amb una catifa, pot ser un mètode útil perquè no arribin els adults.



Figura 13. Dos estanys amb una font en moviment.

Control mitjançant trampes d'adults: *Aedes albopictus* té uns sistemes d'atracció característics d'aquesta espècie, ja que és diürna a diferència de les altres espècies que solen causar molèsties als humans (*Culex pipiens* i *Aedes caspius* principalment). Per això les trampes emprades per a aquestes espècies no són eficaces capturant *Aedes albopictus*. El parany més emprat i que millors resultats ha donat en diferents estudis enfront de *Aedes albopictus* ha estat la trampa BG-Sentinel® (Meeraus, 2008). Donada l'eficàcia d'aquesta trampa emprada en mostres científiques, van treure un parany comercial per a ús domèstic anomenada BG Mosquitaire que té una eficàcia similar i està construïda pensant en un ús continuat. L'addició de diòxid de carboni millora en gran mesura la quantitat de moscards capturats.

Control biològic: la bioenginyeria és un focus principal de recerca en entomologia agrícola i de salut pública. Hi ha diverses aproximacions des d'aquest camp, algunes de les quals estan oferint ja molt bons resultats i altres estan encara en vies de desenvolupament.

- Els peixos larvívors poden ser un mètode de control eficaç per estanys (figura 15), sent un mètode de control biològic mitjançant depredació.
- Els larvicides biològics són àmpliament usats en els plans de control d'*Aedes albopictus* per tractar masses d'aigua. Es fan servir espores de soques de *Bacillus thuringiensis var. israeliensis* i *Bacillus sphaericus* que cristal·litzen amb el pH de l'estómac de les larves dels moscards (Wymann, 2008). Vectomax FG és una formulació especialment dissenyada per tractar aquests petits focus de cria (figura 14).
- L'ús de moscards mascle irradiats o genèticament modificats estèrils per disminuir la població està encara en desenvolupament, i els resultats que es troben publicats estan basats en assajos a petita escala (Bellini et al., 2013). Una altra tècnica d'esterilització és l'ús de soques infectades amb *Wolbachia* (Bonizzoni, 2013), la qual també es troba en estudi, amb el suport d'empreses punteres com Google (Crawford et al., 2020).
- L'ús del fong entomopatogen *Metarhizium anisoplia* ha demostrat en laboratori reduir significativament la longevitat d'*Aedes albopictus* infectats (Scholte, 2008).



Figura 14. Aplicació per espolvoreig de VectoMax FG i la seva etiqueta.



Figura 15. Peixos en un estany eviten l'aparició de larves.

Control químic: Hi ha productes enfocats a controlar les larves (larvicides) com per controlar els adults (adulcicides). La nebulització de productes adulcicides, és una tècnica poc respectuosa amb el medi ambient, i amb toxicitat per als humans, però que ha donat bons resultats reduint brots epidemiològics, com el de Maurici al juny de 2009 (Ramchurn, 2009).

Una possible estratègia de control és l'aplicació residual d'insecticides en llocs de descans per obtenir un efecte més durador i una major mortalitat. Aquesta estratègia pot ser molt útil en entorns urbans com tanques que delimiten propietats (Cilek i Hallmon, 2006; Boubidi et al., 2016). Cal tenir en compte que l'ús d'insecticides comporta el risc que es generin resistències a aquestes substàncies, com ja s'ha comprovat a Espanya (Bengoa et al., 2017).

La disponibilitat de productes larvicides és una complicació a l'hora de realitzar un control larvari domèstic, de manera que les persones solen recórrer a remeis casolans que potser no tinguin una eficàcia demostrada. Un exemple d'això és l'ús de lleixiu per a eliminar les larves. Barrera et al. (2004) va realitzar un estudi sobre l'ús de lleixiu per al control de larves d'*Aedes aegypti*. Les seves conclusions indiquen que encara que el lleixiu no és el millor mètode per eliminar les larves de moscard és econòmic i fàcilment accessible pel públic en general. La quantitat de lleixiu necessària per eliminar larves d'*Aedes aegypti* és molt elevada (250ppm), fet que suposa un risc pel medi ambient. El clor seria l'element del lleixiu (NaOCl) que més efecte tindria sobre les larves, de manera que l'ús d'aquest element, el qual pot ser fàcilment adquirit pel públic en general, pot ser una solució més correcta per al control larvari a nivell domèstic.

Objectiu:

L'objectiu d'aquest estudi és determinar la concentració letal de clor per a les larves *d'Aedes albopictus*, d'aquesta manera es podrà conèixer la quantitat mínima d'aquest element que es pot aplicar en els focus de cria. Coneixent aquesta concentració es podran llançar millors recomanacions per l'autogestió dels focus larvaris, i evitar sobreaplicacions que resultin més perjudicials pel medi ambient del que és necessari.

Metodologia:

Establiment de la colònia.

Per a la realització d'aquest estudi l'autor s'ha basat en tècniques i protocols de cria ja existents (Alarcón-Elbal et al., 2010).

Es van recollir ous de les 160 ovitrampes repartides per tot Mallorca (figura 16). Aquestes trampes de ovoposició són recipients de plàstic de color negre de 8 cm de diàmetre i 15 cm d'altura (600ml de capacitat), amb un forat a manera d'aforament que redueix el volum a 400 ml d'aigua perquè no es vessin amb el aigua de pluja. Dins el tassó s'afegeix aigua desclorada (400 ml) i un depressor lingual de fusta de 15 cm de llarg i 2 cm d'ample. Aquest depressor lingual funciona de substrat on les femelles dipositen els ous. Les ovitrampes són col·locades a nivell de sòl en llocs a l'ombra ficat entre la vegetació. Aquestes són revisades quinzenalment, renovant l'aigua i substituint el depressor lingual (figura 17).

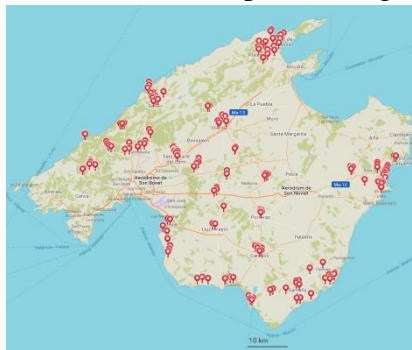


Figura 16. Localització de les 160 ovitrampes repartides per tot Mallorca.



Figura 17. Ovitrapa situada entre la vegetació.

Els depressors són observats amb una lupa binocular i es compten els ous. Els que tenen més de 50 ous són dipositats dins d'una safata amb una mica d'aigua (figura 18), on es deixen eclosionar els ous. Les larves que han eclosionat s'alimenten amb menjar de peixos. Les larves L4 s'obtenen entre els 8 i 10 dies després de la immersió dels depressors.



Figura 18. Safata amb aigua amb aigua i el substrat amb els ous d'*Aedes albopictus*.

Anàlisi del clor en les larves L4.

Per calcular la toxicitat del clor sobre larves d'*Aedes albopictus* es va seguir el protocol descrit per l'OMS "Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides" (WHO, 2005)

L'aigua emprada per realitzar les dilucions de clor i el control va ser aigua mineral natural de mineralització molt dèbil, marca Bezoya, que té una concentració de clor lliure de 0.05 ppm. El clor utilitzat va ser Clor Sill 200 de solució 160 g/l de clor actiu de la marca Silleros e hijos S.L. homologat per la D.G.S.P. amb el núm 18-60-09453. Es va triar aquest clor al ser el producte líquid més habitual en el manteniment de piscines.

Es van emprar tassons d'un sol ús de plàstic per a realitzar l'exposició de les larves. El volum emprat en cada tassó és de 100 ml. La profunditat d'aigua en els tassons ha de ser d'entre 5 i 10 cm, nivells d'aigua més profunds poden causar una altra causa de mortalitat. Es van emprar larves L4, les quals una hora abans de ser exposades a les concentracions van ser separades en recipients amb aigua neta per eliminar les possibles restes d'aliments.

D'acord amb la metodologia de la OMS s'han de realitzar com a mínim 6 dissolucions més el control. Les dilucions emprades van ser des de 0 fins 384 ppm de clor (1 ppm = 1 mg de clor per cada litre de dissolució). De cada concentració es van realitzar 4 rèpliques (figura 19). Els recipients es mantenen entre 25 i 28 °C i un fotoperíode de 12 hores de llum seguit de 12 hores de foscor. A cada concentració es van exposar 100 larves, 25 per cada rèplica.

Després de 24 hores d'exposició es registra la mortalitat larval. Es van considerar larves mortes aquelles que no es mouen ni després d'agitar l'aigua ni poden pujar a la superfície a respirar.

Si en el control mor més d'un 10% es descarta la prova.



Figura 19. Les 4 repeticions dels tassons amb aigua amb concentració de 256ppm.

Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.

En l'estudi de Barrera (2004) es van observar diferents efectes del lleixiu en diferents estats larvaris d'*Aedes aegypti* (L1, L2, L3, L4 i pupa). En aquest cas hem realitzat l'assaig descrit a l'apartat anterior per determinar com afecta la mateixa quantitat de clor al llarg de tot el cicle larvari.

Cada estadi va ser exposat a 5 concentracions diferents de clor a 16, 32, 64, 128 o 256 ppm, a més del control.

Tant l'aigua com el clor emprats van ser els mateixos que els anteriorment descrits, així com la procedència de les larves emprades.

Es van exposar grups de 100 larves (L1-L4), 100 pupes o 100 ous a cada dilució, que en aquest cas van ser de 16, 32, 64, 128 i 256 ppm a més del control. Prèviament, les larves, ous i pupes es van esbandir amb aigua per eliminar les possibles restes d'aliments. Després de 24 hores d'exposició es van contar les larves i pupes mortes i en el cas dels ous es van comptabilitzar els no eclosionats (figura 20). Si en el control mor més d'un 10% es descarta la prova.

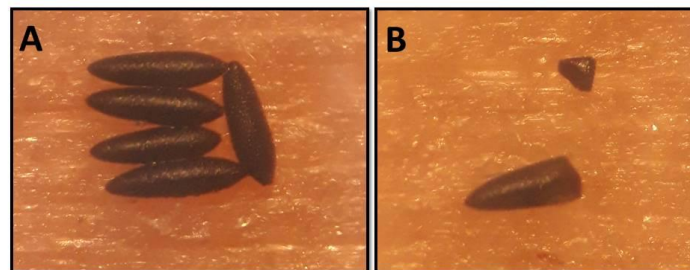


Figura 20. A la fotografia A hi ha 5 ous no eclosionats. A la fotografia B un ou eclosionat.

Durabilitat del clor en l'aigua.

El temps en que el clor està en la seva forma lliure en l'aigua és limitat, ja que aquest es degrada i s'oxida amb l'aigua i la matèria orgànica que aquesta té. Per determinar la rapidesa amb la qual el clor líquid perd eficàcia s'ha emprat el mateix clor emprat anteriorment (Clor Sill 200) (figura 21).

S'ha començat l'anàlisi amb una concentració de clor lliure de 9 ppm i s'ha analitzat la mostra cada 12 hores, fins que l'aigua no ha tingut rastre de clor. S'ha emprat un clorímetre per clor lliure HI 701 d'Hanna instruments (figura 22), el rang de mesura és de 0 a 2.50 ppm de clor lliure.



Figura 21. Etiqueta de la botella de Cloro Sill 200.



Figura 22. Clorímetre per clor lliure HI 701 de Hanna instruments.

És habitual en el manteniment de piscines emprar clor d'alliberament lent, pel que hem emprat pastilles de clor 5 accions d'Indústries Químiques Tamar, S.L. homologat amb el núm 11-60-4255 (figura 23). S'ha ficat una pastilla de 200 grams en un recipient amb 50 litres d'aigua i s'ha analitzat cada 24 hores, fins que no ha tingut rastre de clor. Com la concentració de clor era alta, s'ha mesurat amb tires de prova per clor lliure de Hach amb el número de catàleg 28.902-00, les quals tenen un rang de clor de 0 a les 600 ppm (figura 24). A més d'anotar el clor lliure indicat per les tires, es va treure una foto a cada tira per comparar-los posteriorment.



Figura 23. Pastilles de clor i etiqueta de les pastilles d'Indústries Químiques Tamar, S.L



Figura 24. Tires de prova per clor lliure de Hach.

Anàlisi estadístics.

Per determinar la concentració letal de clor tant amb larves L4 com amb la resta de fases s'ha emprat SPSS (IBM). S'han realitzat regressions log-probit, i s'han calculat els valors LC50, LC90 i LC99. La prova és vàlida si la desviació estàndard relativa (o coeficient de variació) és inferior al 25%.

Per al càlcul de la durada del clor lliure s'ha emprat el paquet d'Excel (Microsoft) i s'han calculat les regressions que millor s'adaptaven a la corba de degradació del producte.

Resultats:

Anàlisi del clor en les larves L4.

Donada la poca informació disponible sobre els efectes del clor en les larves de moscards, hem hagut d'ampliar molt el nombre de concentracions fins a tenir un rang de mortalitat del 0% al 100% (Taula 1). L'anàlisi de regressió log-probit és vàlid ja que la desviació estàndard està dins dels paràmetres (Taula 2 i Figura 25). D'acord amb les dades subministrades per aquest anàlisi, la CL50 és de 65,6 ppm, la CL 90 és de 217,1 ppm i la CL 99 és de 576 ppm (Taula 3). Al representar gràficament els resultats de mortalitat obtinguts amb les diferents concentracions (Figura 26), observem que la regressió polinòmica d'ordre 3 és la que millor s'adapta ($R^2=0,9529$).

	Concentració de clor lliure en mg/l o ppm	Mostres (larves mortes)				sumatori Mortalitat	% Mortalitat
		A	B	C	D		
Mostra control	0,05	0	0	0	0	0	0%
Mostra 1	0,16	0	0	0	0	0	0%
Mostra 2	1,6	0	0	0	0	0	0%
Mostra 3	6,4	0	0	1	0	1	1%
Mostra 4	11,8	2	2	0	1	5	5%
Mostra 5	16	5	3	5	3	16	16%
Mostra 6	24	2	2	7	5	16	16%
Mostra 7	32	2	3	5	5	15	15%
Mostra 8	48	6	2	2	6	16	16%
Mostra 9	64	16	11	10	13	50	50%
Mostra 10	96	18	15	16	18	67	67%
Mostra 11	128	21	18	19	20	78	78%
Mostra 12	256	24	24	23	24	95	95%
Mostra 13	384	25	25	25	25	100	100%

Taula 1. Resultats obtinguts de les diferents concentracions amb larves L4.

Estimacions de paràmetre							
paràmetre		Estimación	Desv. Error	Z	Sig.	Interval de confiança del 95%	
						Límit inferior	Límit superior
PROBIT	concentració	2,465	0,126	19,581	0,000	2,219	2,712
	Intersecció	-4,479	0,225	-19,896	0,000	-4,705	-4,254

Taula 2. Model PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersecció} + BX$ (Les covariables X es transformen utilitzant el logaritme base 10).

Límits de confiança							
probabilitat		95% de límits de confiança per concentracions			95% de límits de confiança per logaritme base 10 (concentracions)		
		estimació	Límit inferior	Límit superior	estimació	Límit inferior	Límit superior
PROBIT	,010	7,470	5,619	9,403	0,873	0,750	0,973
	,020	9,636	7,473	11,847	0,984	0,873	1,074
	,030	11,325	8,951	13,723	1,054	0,952	1,137
	,040	12,788	10,249	15,331	1,107	1,011	1,186
	,050	14,116	11,441	16,780	1,150	1,058	1,225
	,060	15,355	12,563	18,125	1,186	1,099	1,258
	,070	16,531	13,634	19,394	1,218	1,135	1,288
	,080	17,660	14,668	20,609	1,247	1,166	1,314
	,090	18,753	15,675	21,782	1,273	1,195	1,338
	,100	19,819	16,662	22,923	1,297	1,222	1,360
	,150	24,917	21,422	28,357	1,397	1,331	1,453
	,200	29,889	26,107	33,647	1,476	1,417	1,527
	,250	34,939	30,876	39,040	1,543	1,490	1,592
	,300	40,196	35,829	44,699	1,604	1,554	1,650
	,350	45,771	41,046	50,770	1,661	1,613	1,706
	,400	51,775	46,609	57,401	1,714	1,668	1,759
	,450	58,333	52,608	64,763	1,766	1,721	1,811
	,500	65,597	59,157	73,061	1,817	1,772	1,864
	,550	73,765	66,407	82,566	1,868	1,822	1,917
	,600	83,107	74,563	93,643	1,920	1,873	1,971
	,650	94,009	83,923	106,814	1,973	1,924	2,029
	,700	107,048	94,928	122,875	2,030	1,977	2,089
	,750	123,156	108,289	143,113	2,090	2,035	2,156
	,800	143,961	125,234	169,809	2,158	2,098	2,230
	,850	172,687	148,169	207,539	2,237	2,171	2,317
	,900	217,110	182,823	267,526	2,337	2,262	2,427
	,910	229,453	192,307	284,497	2,361	2,284	2,454
	,920	243,658	203,155	304,178	2,387	2,308	2,483
	,930	260,294	215,774	327,418	2,415	2,334	2,515
	,940	280,221	230,777	355,508	2,448	2,363	2,551
	,950	304,815	249,141	390,536	2,484	2,396	2,592

	,960	336,482	272,560	436,174	2,527	2,435	2,640
	,970	379,957	304,343	499,729	2,580	2,483	2,699
	,980	446,565	352,325	598,907	2,650	2,547	2,777
	,990	576,039	443,585	797,001	2,760	2,647	2,901

Taula 3. Límits de confiança PROBIT utilitzant un factor d'heterogeneïtat, calculat amb el SPSS.

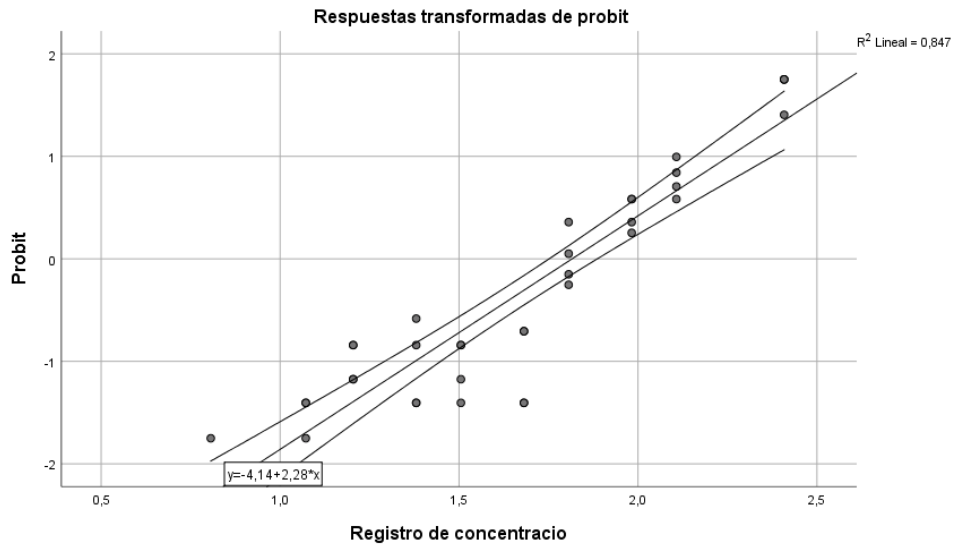


Figura 25. Gràfica logàrítica transformada del probit.

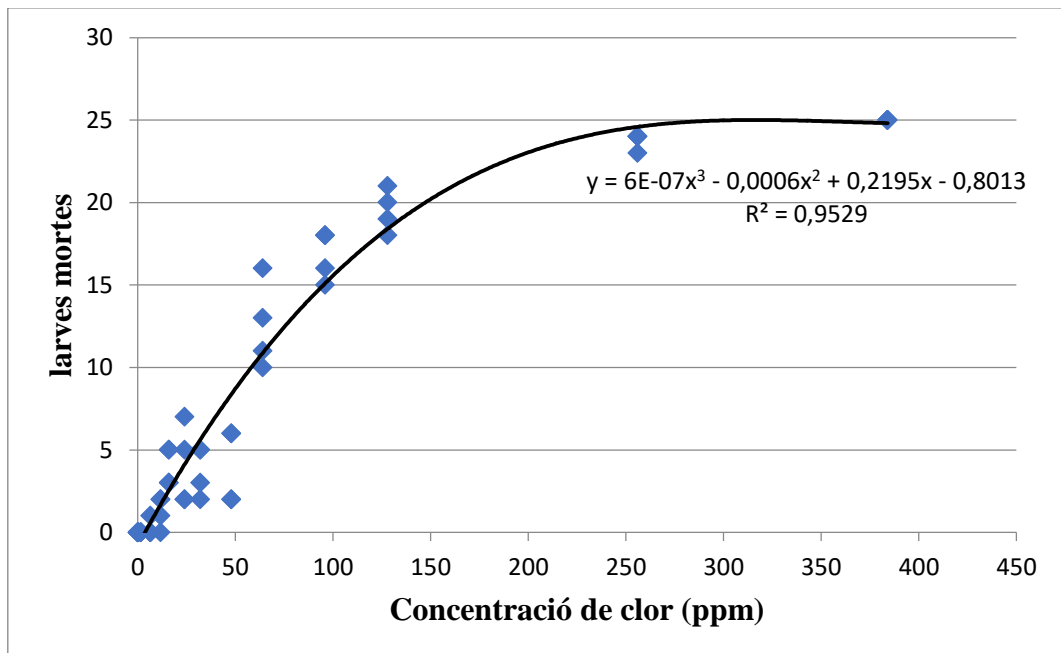


Figura 26. Resultats de la taula 1 on ens mostra la comparació entre la concentració de clor i les larves mortes, amb una línia de tendència polinàmica d'ordre 3.

Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.

La resistència al clor ha anat en augment a mesura que la larva es trobava més desenvolupada (Taula 4). En estat de pupa, la mortalitat ha estat molt reduïda, fins i tot a concentracions màximes. S'ha avaluat la supervivència de les larves per poder comparar les dades obtingudes per Barrera (2004) amb lleixiu davant *Aedes aegypti* (Figura 27). De tota manera, transformar les dades de supervivència en dades de mortalitat és una tasca molt senzilla ($100\% - \% \text{ de supervivència} = \% \text{ de mortalitat}$). En el cas dels ous, no tots eclosionen de manera uniforme, de manera que és poc realista tenir una eclosió del 100% en el control. La resistència dels ous al clor ha estat superior a les larves, tot i que no tant com les pupes, i fins a concentracions de 256 ppm amb prou feines ha tingut una reducció en l'eclosió significativa.

	ous	L1	L2	L3	L4	pupa
Control	9%	0%	0%	0%	0%	0%
16 ppm	8%	80%	48%	32%	16%	0%
32 ppm	10%	99%	80%	45%	15%	0%
64 ppm	15%	100%	98%	80%	50%	0%
128 ppm	24%	100%	100%	94%	78%	0%
256 ppm	75%	100%	100%	100%	95%	20%

Taula 4. Resultats de mortalitat obtinguts de les diferents concentracions amb ous, larves L1, L2, L3, L4 i pupes, a cada casella hi ha la suma de les 4 mostres.

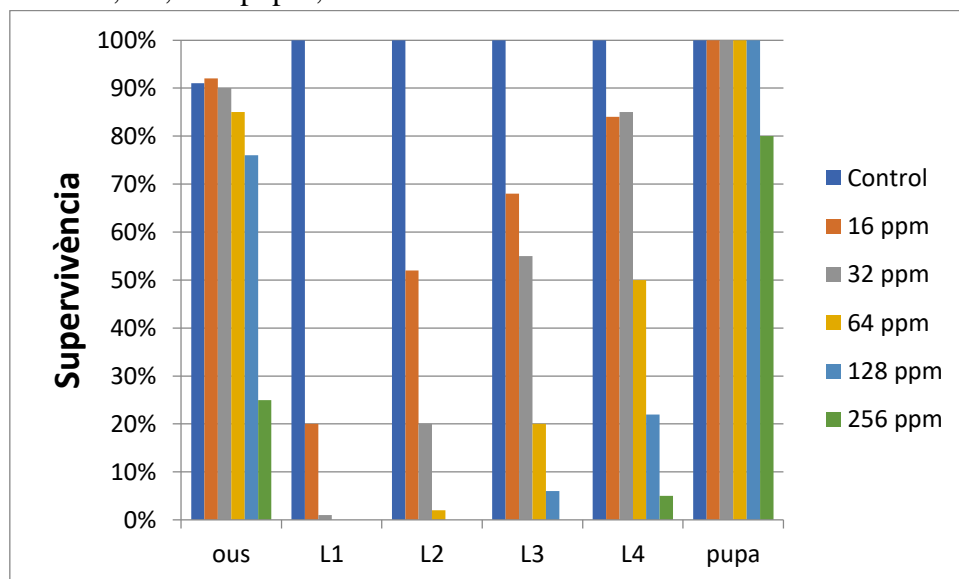


Figura 27. Gràfica de supervivència treta a partir taula 4.

Durabilitat del clor en l'aigua.

La persistència del clor líquid en l'aigua és molt reduïda, reduint-se al 50% a les 10 hores aproximadament i pràcticament no queda res als 3 dies (Figura 28). La seva equació d'extinció és una exponencial invertida ($R^2=0,9761$).

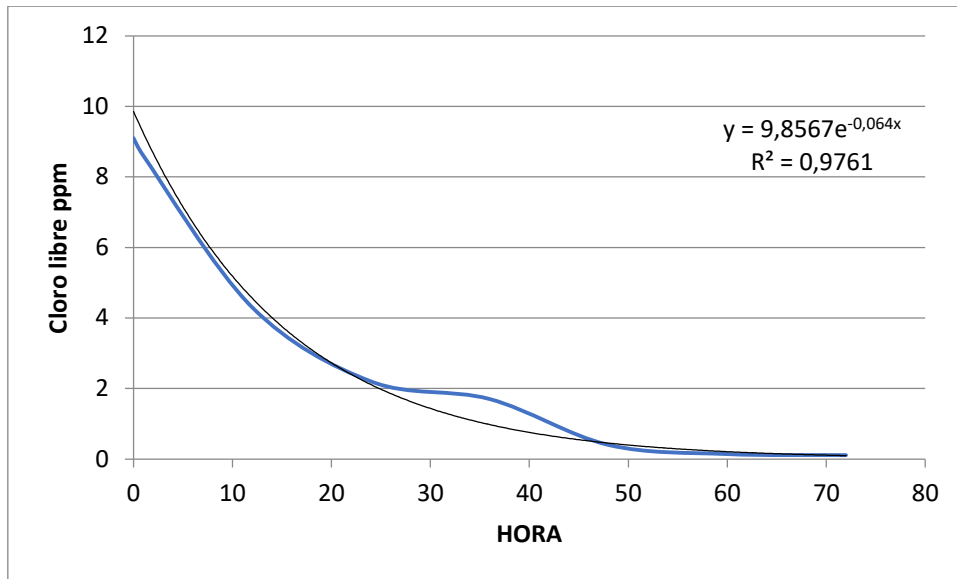


Figura 28. Anàlisi de la durabilitat del clor líquid durant 3 dies.

El clor sòlid té una persistència molt més gran, tot i que es triguen 6 dies en arribar a les 300 ppm. La concentració es manté estable fins als 85 dies, quan aquesta comença a baixar ràpidament (Figura 29).

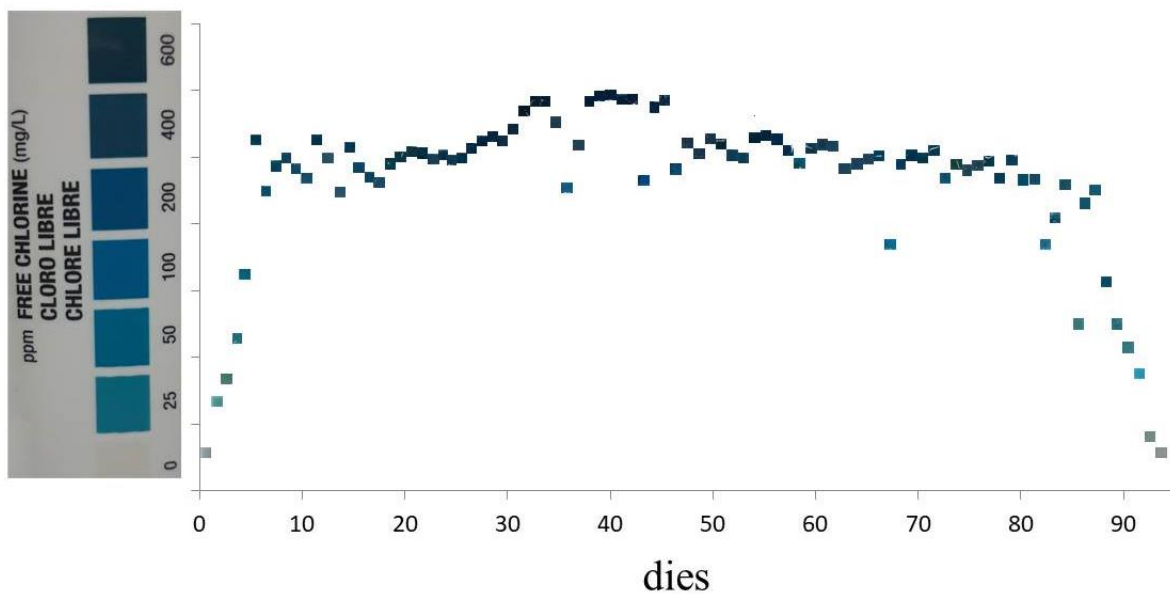


Figura 29. ppm de clor lliure amb pastilles de clor sòlid. Mesures realitzades cada 24 hores durant 94 dies.

Discussió:

Anàlisi del clor en les larves L4.

Clarament s'observa una relació entre la concentració de clor i la mortalitat de les larves. A més concentració, més gran és la mortalitat. La mostra del 50% de supervivència, ens coincideix bastant amb la concentració letal per matar el 50% de la població (LC50) segons l'anàlisi de regressió log-probit, que és de 65 ppm. És a dir, si posem 65 mg de clor per cada litre d'aigua eliminarem el 50% de la població.

En canvi la concentració letal per matar el 99% de la població (LC99) segons l'anàlisi de regressió log-probit, és de 576 ppm. Pel que si posem 576 mg de clor per cada litre d'aigua mataríem el 99% de les larves L4 d'*Aedes albopictus*. El que vol dir que si apliquem 3.6 ml de clor de solució 160 g/l de clor actiu per cada litre d'aigua podríem matar pràcticament totes les larves de moscard tigre de la zona a tractar.

En els embornals (figura 30), se sol acumular entre 10 i 30 litres d'aigua, el que significa que per matar el 99% de la població de larves d'*Aedes albopictus*, s'hauria d'aplicar entre 36 i 108 ml de Cloro Sill 200.



Figura 30. Dos embornals que podem trobar pel carrer, el primer mesura 65cm x 45cm, se solen acumular uns 30 litres d'aigua. El segon embornal mesura 45cm x 25cm i pot acumular uns 12 litres d'aigua.

Anàlisi del clor en els diferents estats larvaris.

En la gràfica de la figura 27 es pot observar com les pupes tenen una gran resistència al nivell de clor, segurament per ser un estadi que no s'alimenta, d'aquesta manera es pot deduir que el clor afecta l'aliment de les larves. El mateix passa amb els ous, al no alimentar-se i presentar una cutícula gruixuda i resistent, tampoc els afecta molt la presència de clor a l'aigua, només les mostres de concentració de 256 ppm, segurament per canviar molt les condicions de l'aigua.

Es pot comprovar l'eficiència del clor per matar les larves d'*Aedes albopictus*, tant les larves L1, com les L2 són molt sensibles al clor en canvi les L4 són més resistents. Si es compara la línia del 20% de supervivència dels quatre estadis larvaris, les L1 és de 16ppm, les L2 és de 32 ppm, les L3 és de 64ppm i les L4 és de 128ppm. Pel que s'observa que la resistència al clor de les larves és lineal.

Al comparar la gràfica del present estudi (figura 27), amb la de l'estudi de Barrera (2004) fet sobre larves d'*Aedes aegypti* (figura 31), es pot observar com tant les larves de les dues espècies com les pupes tenen una tolerància molt similar enfront del clor. I a les larves L4, coincideix en el 50% de supervivència en les dues espècies en 64 ppm de concentració de

clor. Les pupes d'*Aedes aegypti* com la d'*Aedes albopictus* tenen una forta resistència enfront al clor.

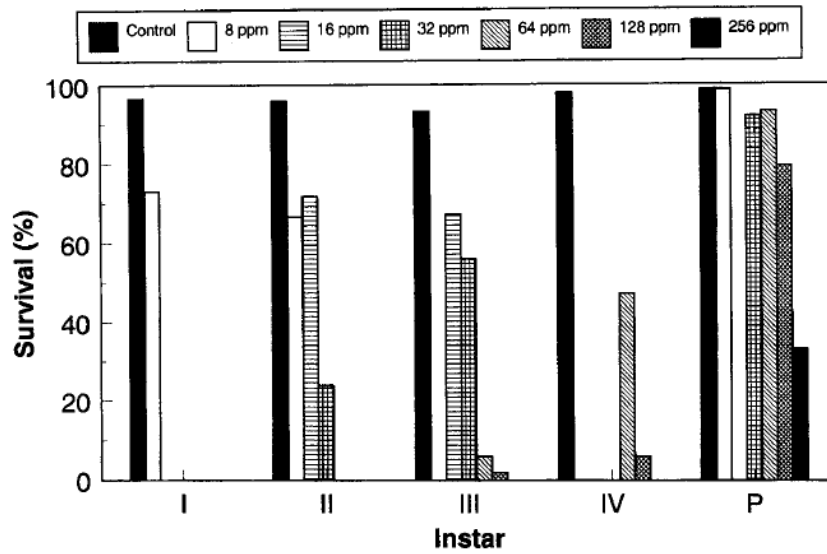


Figura 31. Supervivència de larves d'*Aedes aegypti* exposat a una sola aplicació d'hipoclorit de sodi (lleixiu domèstic) en recipients de cria amb aigua (Barrera, 2004).

Lleixiu domèstic.

El lleixiu, accessible per a tots, sembla que ha de ser un bon element per acabar amb les larves de moscard. Com es veu en les etiquetes de la figura 32, la seva concentració és de 37 g/l de clor actiu a la sortida de fàbrica.



Figura 32. Diferents etiquetes de lleixiu fabricats per Inquivisa S.L., Asturquimia S.L., Suavizantes y Plastificantes Bituminosos S.L. i Henkel Ibérica S.A.

La concentració de clor del lleixiu és molt baixa i s'hauria de posar 15.5 ml de lleixiu per cada litre d'aigua per poder eliminar el 99% de les larves de moscard tigre. A part, com hem observat en la gràfica de la figura 28 el clor és volatilitza molt ràpidament pel que no té un efecte durador, només mataria les larves que hi ha en el moment de l'aplicació.

En una font de jardí com la de la figura 33 on pot haver-hi 500 litres d'aigua, hauríem d'aplicar gairebé 8 litres de lleixiu per matar el 99% de les larves de moscard tigre.

O en un safareig de reg abandonat, que actualment se n'observen molts al camp, s'acumulen 3500 l d'aigua, de manera que hauríem d'aplicar 54 l de lleixiu per eliminar el 99% de la població de moscards tigre.

El lleixiu, a part de àcid clorós (HClO) conté sals blanquejants no respectuoses amb el medi ambient, de manera que no hauria de ser utilitzada per eliminar les larves de segons quins llocs on pugui deixar residus a l'aigua i contaminar el medi natural.



Figura 33. Font de jardí de 2 metres de diàmetre, en aquesta font s'acumulen 500 litres d'aigua, un bon focus de cria si l'aigua no està en moviment o no la tractem.



Figura 34. Safareig de reg abandonat de 7m de llarg x 5 metres d'ample i 10 cm d'aigua, en aquests llocs s'acumulen 3500 litres d'aigua, aquest és un bon focus de cria.

Durabilitat del clor en l'aigua.

El clor és un element inestable, si es deixa en contacte amb l'aire es volatilitza molt ràpidament, en uns pocs dies es pot passar de tenir una gran quantitat de clor en un estany a no tenir res. Pel que, per al control de larves de moscard, només serveix per matar les larves en un moment puntual.

Pel que s'ha de cercar una solució que tingui l'acció més lenta, com són les pastilles de clor de piscina, on va augmentant el nivell de clor de l'aigua a mesura que es va desfent, els seus efectes poden durar fins a 3 mesos dins l'aigua. En la figura 35, es pot observar un safareig de reg abandonada i una font de jardí, on després d'una setmana d'exposició amb pastilles de clor no hi ha presència de larves de moscards.



Figura 35. A la primera imatge el safareig de la figura 34 i la segona imatge la font de la figura 33. Després d'una setmana d'exposició amb pastilles de clor no hi ha presència de larves de moscards.

Conclusions:

En aquest estudi s'ha comprovat l'eficiència del clor per matar les larves d'*Aedes albopictus* observant que la concentració letal per matar el 50% de la població (LC50) és de 65 ppm i la concentració letal per matar el 99% de la població (LC99) és de 576 ppm. Pel que si posam 576 mg de clor per cada litre d'aigua mataríem el 99% de les larves L4 d'*Aedes albopictus*. El que vol dir que si apliquem 3.6 ml de clor de solució 160 g/l de clor actiu per cada litre d'aigua podríem matar pràcticament totes les larves de moscard tigre de la zona a tractar.

El clor és una bona solució a nivell domèstic per controlar la població de moscard tigre, matant les larves en un moment puntual, accessible i assequible per al públic en general. El major problema d'aquest element és ser molt volàtil d'aquesta manera desapareix la seva eficàcia en pocs dies. Pel que la millor solució és utilitzar un clor de llarga durada com són les pastilles per clor de piscina. De totes maneres s'hauria d'utilitzar per a aquesta finalitat en darrera instància, al ser el clor un element contaminant per al medi ambient.

Agraïments:

L'autor agraeix al Dr. Mikel Bengoa Paulis, per haver donat l'oportunitat de fer feina al seu costat a la Consultoria Moscard Tigre durant aquests darrers anys, aprenent aquest ofici i donar-me l'oportunitat de fer aquesta investigació. També s'agraeix a la Universitat de les Illes Balears i al Dr. Miguel Ángel Miranda Chueca per a fer possible aquest treball.

També mencionar d'una manera molt especial a la família de l'autor, per acompanyar i donar suport durant tota la carrera. En particular a la mare de l'autor Margalida Lull que ha estat al costat en tot moment i a la esposa María Jesús Sánchez per tenir la paciència de tenir larves de moscard per dins la casa.

Bibliografia:

- Abramides, G. C., Roiz, D., Guitart, R., Quintana, S., Guerrero, I. & Giménez, N. (2011) Effectiveness of a multiple intervention strategy for the control of the tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Spain. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **105**, 281-288.
- Adhami, J. & Reiter, P. (1998) Introduction and establishment of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* skuse (Diptera: Culicidae) in Albania. *J Am Mosq Control Assoc*, **14**, 340-343.
- Alarcón-Elbal, P., Delacour, S., Collantes, F., Delgado, J., Arrondo, I., Pinal-Prieto, R., *et al.* (2013) Primeros hallazgos de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) en la provincia de Valencia, España. *Anales de Biología*, **35**, 95-99.
- Alarcón-Elbal, P., Delacour, S., Pinal, R., Arrondo, I., Muñoz, A., Bengoa, M., *et al.* (2010) Establecimiento y mantenimiento de una colonia autóctona española de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse, 1894, (Diptera, Culicidae) en laboratorio. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.*, **69**, 140-148.
- Aranda, C., Eritja, R. & Roiz, D. (2006) First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Med Vet Entomol*, **20**, 150-152.
- Barceló, C., Bengoa, M., Monerris, M., Molina, R., Delacour-Estrella, S., Lucientes, J., *et al.* (2015) First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera; Culicidae) from Ibiza (Balearic Islands; Spain). *Journal of the European Mosquito Control*

- Association*, **33**, 1-4.
- Barrera, R., Amador, M. & Clark, G. G. (2004) The use of household bleach to control *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc*, **20**, 444-448.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M. B., Dahl, C., *et al.* (2010) *Mosquitoes and their control*, New York.
- Bellini, R., Medici, A., Puggioli, A., Balestrino, F. & Carrieri, M. (2013) Pilot Field Trials With *Aedes albopictus* Irradiated Sterile Males in Italian Urban Areas. *Journal of medical entomology*, **50**, 317-325.
- Bengoa, M., Delacour-Estrella, S., Barceló, C., Paredes-Esquivel, C., Leza, M., Lucientes, J., *et al.* (2016) First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera; Culicidae) from Minorca (Balearic Islands, Spain). *Journal of the European Mosquito Control Association*, **34**.
- Bengoa, M., Eritja, R., Delacour, S., Miranda, M. A., Sureda, A. & Lucientes, J. (2017) First Data on Resistance to Pyrethroids in Wild Populations of *Aedes albopictus* from Spain. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **33**, 246-249.
- Bengoa, M., Eritja, R. & Lucientes, J. (2013) Laboratory tests of the residual effect of deltamethrin on vegetation against *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc*, **29**, 284-288.
- Bonilauri, P., Bellini, R., Calzolari, M., Angelini, R., Venturi, L., Fallacara, F., *et al.* (2008) Chikungunya virus in *Aedes albopictus*, Italy. *Emerg Infect Dis*, **14**, 852-854.
- Bonizzoni, M., Britton, M., Marinotti, O., Dunn, W. A., Fass, J. & James, A. A. (2013) Probing functional polymorphisms in the dengue vector, *Aedes aegypti*. *BMC Genomics*, **14**, 739.
- Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X. & James, A. A. (2013) The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends Parasitol*, **29**, 460-468.
- Boubidi, S. C., Roiz, D., Marie, R., Chandre, F., Benoit, R., Raselli, M., *et al.* (2016) Efficacy of ULV and thermal aerosols of deltamethrin for control of *Aedes albopictus* in Nice, France. *Parasites & Vectors*, **9**.
- Buhagiar, J. (2009) A second record of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera: Culicidae) in Malta. *European Mosquito Bulletin Journal of the European Mosquito Control Association ISSN*, **27**, 65-67.
- Cilek, J. E. & Hallmon, C. F. (2006) Residual effectiveness of pyrethroid-treated foliage against adult *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* in screened field cages. *J Am Mosq Control Assoc*, **22**, 725-731.
- Collantes, F., Delacour, S., Alarcón-Elbal, P. M., Ruiz-Arrondo, I., Delgado, J. A., Torrell-Sorio, A., *et al.* (2015) Review of ten-years presence of *Aedes albopictus* in Spain 2004-2014: known distribution and public health concerns. *Parasit Vectors*, **8**, 655.
- Collantes, F., Delacour, S., Delgado, J. A., Bengoa, M., Torrell-Sorio, A., Guinea, H., *et al.* (2016) Updating the known distribution of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in Spain 2015. *Acta Trop*, **164**, 64-68.
- Collantes, F. & Delgado, J. (2011) Primera cita de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) en la Región de Murcia. *Anales de Biología*, **33**, 99-101.
- Crawford, J. E., Clarke, D. W., Criswell, V., Desnoyer, M., Cornel, D., Deegan, B., *et al.* (2020) Efficient production of male Wolbachia-infected *Aedes aegypti* mosquitoes

- enables large-scale suppression of wild populations. *Nat Biotechnol*, **38**, 482-492.
- Delacour, S., Arrondo, I., Alarcón-Elbal, P., Bengoa, M., Collantes, F., Eritja, R., *et al.* (2016) Primera cita del mosquito invasor *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) en Aragón: confirmación de su presencia en Huesca capital. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **58**, 157-158.
- Delacour, S., Barandika, J., García-Pérez, A., Francisco, C., Arrondo, I., Alarcón-Elbal, P., *et al.* (2015) Detección temprana de mosquito tigre, *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), en el País Vasco (España). *Anales de Biología*, **37**, 25-30.
- Delacour, S., Bravo-Minguet, D., Alarcón-Elbal, P. M., Bengoa, M., Casanova, A., Melero, A. R., *et al.* (2010) Detección de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en Benicssim. Primera cita para la provincia de Castellón (España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **47**, 440.
- Di Luca, M., Toma, L., Severini, F., D'Ancona, F. & Romi, R. (2001) [*Aedes albopictus* in Rome: monitoring in the 3-year period of 1998-2000]. *Ann Ist Super Sanita*, **37**, 249-254.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2016) *Aedes albopictus* - Factsheet for experts. In *Aedes albopictus* - Factsheet for experts, <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-albopictus>.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2020) Mosquito maps. In *Mosquito maps*, <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/mosquito-maps>.
- Enserink, M. (2008) Entomology. A mosquito goes global. *Science*, **320**, 864-866.
- Eritja, R., Escosa, R., Lucientes, J., Marques, E., Roiz, D. & Ruiz, S. (2005) Worldwide invasion of vector mosquitoes: present European distribution and challenges for Spain. *Biological Invasions*, **7** (1), 87-97.
- Eritja, R., Palmer, J. R. B., Roiz, D., Sanpera-Calbet, I. & Bartumeus, F. (2017) Direct Evidence of Adult *Aedes albopictus* Dispersal by Car. *Sci Rep*, **7**, 14399.
- GISD (Global Invasive Species Database). (2020) 100 of the World's Worst Invasive Alien Species. In *100 of the World's Worst Invasive Alien Species*, http://www.iucngisd.org/gisd/100_worst.php.
- GISD (Global Invasive Species Database). (2020) Species profile: *Aedes albopictus*. In *Species profile: Aedes albopictus*, <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=109>.
- Gjenero-Margan, I., Aleraj, B., Krajcar, D., Lesnikar, V., Klobučar, A., Pem-Novosel, I., *et al.* (2011) Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010. *Euro Surveill*, **16**.
- Grandadam, M., Caro, V., Plumet, S., Thiberge, J. M., Souarès, Y., Failloux, A. B., *et al.* (2011) Chikungunya virus, southeastern France. *Emerg Infect Dis*, **17**, 910-913.
- Gratz, N. G. (2004) Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol*, **18**, 215-227.
- Halasa, Y. A., Shepard, D. S., Fonseca, D. M., Farajollahi, A., Healy, S., Gaugler, R., *et al.* (2014) Quantifying the impact of mosquitoes on quality of life and enjoyment of yard and porch activities in New Jersey. *PLoS One*, **9**, e89221.
- Hanson, S. M. & Craig, G. B. (1995) *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) eggs: field survivorship during northern Indiana winters. *J Med Entomol*, **32**, 599-604.

- Knudsen, A. B. (1995) Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. *Parassitologia*, **37**, 91-97.
- La Roche, G., Souarès, Y., Armengaud, A., Peloux-Petiot, F., Delaunay, P., Desprès, P., *et al.* (2010) First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Euro Surveill*, **15**, 19676.
- Madon, M. B., Mulla, M. S., Shaw, M. W., Kluh, S. & Hazelrigg, J. E. (2002) Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *J Vector Ecol*, **27**, 149-154.
- Marini, F., Caputo, B., Pombi, M., Tarsitani, G. & della Torre, A. (2010) Study of *Aedes albopictus* dispersal in Rome, Italy, using sticky traps in mark-release-recapture experiments. *Medical and veterinary entomology*, **24**, 361-368.
- McLean-Cooper, N., Achee, N., Foggie, T., Grieco, J. & Williams, J. (2008) Space optimizing methods for laboratory rearing of *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc*, **24**, 460-462.
- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Versteirt, V., Cull, B., Kampen, H., Fontenille, D., *et al.* (2015) An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bull Entomol Res*, **105**, 637-663.
- Meena, A. R. & Choudhary, N. L. (2019) Container breeding preference of *Aedes albopictus* in urban environment. *International Journal of Mosquito Research*, **6(5)**, 44-47.
- Meeraus, W. H., Armistead, J. S. & Arias, J. R. (2008) Field comparison of novel and gold standard traps for collecting *Aedes albopictus* in Northern Virginia. *J Am Mosq Control Assoc*, **24**, 244-248.
- Miquel, M., Del Río, R., Borrás, D., Barceló, C., Paredes Esquivel, C., Ramon, J., *et al.* (2013) First detection of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in the Balearic Islands (Spain).
- Moore, C. G. (1999) *Aedes albopictus* in the United States: current status and prospects for further spread. *J Am Mosq Control Assoc*, **15**, 221-227.
- Mori, A., Oda, T. & Wada, Y. (1981) Studies on the egg diapause and overwintering of *Aedes albopictus* in Nagasaki.
- Munstermann, L. E. & Conn, J. E. (1997) Systematics of mosquito disease vectors (Diptera, Culicidae): impact of molecular biology and cladistic analysis. *Annu Rev Entomol*, **42**, 351-369.
- Muñoz, J., Eritja, R., Alcaide, M., Tomas, M., Soriguer, R. & Figuerola, J. (2011) Host-Feeding Patterns of Native *Culex pipiens* and Invasive *Aedes albopictus* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Urban Zones From Barcelona, Spain. *Journal of medical entomology*, **48**, 956-960.
- Palmer, J. R. B., Oltra, A., Collantes, F., Delgado, J. A., Lucientes, J., Delacour, S., *et al.* (2017) Citizen science provides a reliable and scalable tool to track disease-carrying mosquitoes. *Nat Commun*, **8**, 916.
- Paupy, C., Delatte, H., Bagny, L., Corbel, V. & Fontenille, D. (2009) *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes Infect*, **11**, 1177-1185.
- Pereira, T. N., Carvalho, F. D., De Mendonça, S. F., Rocha, M. N. & Moreira, L. A. (2020) Vector competence of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes for Mayaro virus. *PLoS Negl Trop Dis*, **14**, e0007518.

- Rajarethinam, J., Ong, J., Neo, Z. W., Ng, L. C. & Aik, J. (2020) Distribution and seasonal fluctuations of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larval and pupae in residential areas in an urban landscape. *PLoS Negl Trop Dis*, **14**, e0008209.
- Ramchurn, S. K., Moheeput, K. & Goorah, S. S. (2009) An analysis of a short-lived outbreak of dengue fever in Mauritius. *Euro Surveill*, **14**.
- Roiz, D., Eritja, R., Escosa, R., Lucientes, J., Marquès, E., Melero-Alcíbar, R., *et al.* (2007) A survey of mosquitoes breeding in used tires in Spain for the detection of imported potential vector species. *J Vector Ecol*, **32**, 10-15.
- Roiz, D., Eritja, R., Melero Alcibar, R., Molina, R., Marques, E., Ruiz, S., *et al.* (2007) Distribución de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894)(Diptera, Culicidae) en España. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **40**, 523-526.
- Sanz-Aguilar, A., Rosselló, R., Bengoa, M., Ruiz-Pérez, M., González-Calleja, M., Barceló, C., *et al.* (2018) Water associated with residential areas and tourist resorts is the key predictor of Asian tiger mosquito presence on a Mediterranean island. *Med Vet Entomol*, **32**, 443-450.
- Schaffner, F., Bellini, R., Petrić, D., Scholte, E.-J., Zeller, H. & Rakotoarivony, L. (2012) Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe.
- Scholte, E. J., Dijkstra, E., Blok, H., De Vries, A., Takken, W., Hofhuis, A., *et al.* (2008) Accidental importation of the mosquito *Aedes albopictus* into the Netherlands: a survey of mosquito distribution and the presence of dengue virus. *Med Vet Entomol*, **22**, 352-358.
- Shotkoski, F., Zhang, H. G., Jackson, M. B. & French-Constant, R. H. (1996) Stable expression of insect GABA receptors in insect cell lines. Promoters for efficient expression of *Drosophila* and mosquito Rdl GABA receptors in stably transformed mosquito cell lines. *FEBS Lett*, **380**, 257-262.
- Skuse, F. A. A. (1894) The banded mosquito of Bengal. *Indian Museum notes*, **3**, 20.
- Tavecchia, G., Miranda, M. A., Borrás, D., Bengoa, M., Barceló, C., Paredes-Esquível, C., *et al.* (2017) Modelling the range expansion of the Tiger mosquito in a Mediterranean Island accounting for imperfect detection. *Front Zool*, **14**, 39.
- Tian, J., Liu, X. C., Liu, Z. L., Lai, D. & Zhou, L. (2016) Larvicidal spirobisanthralenes from the endophytic fungus *Berkleasium* sp. against *Aedes albopictus*. *Pest Manag Sci*, **72**, 961-965.
- Tilston, N., Skelly, C. & Weinstein, P. (2009) Pan-European Chikungunya surveillance: designing risk stratified surveillance zones. *Int J Health Geogr*, **8**, 61.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). (2005) Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides.
- Worobey, J., Fonseca, D. M., Espinosa, C., Healy, S. & Gaugler, R. (2013) Child outdoor physical activity is reduced by prevalence of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc*, **29**, 78-80.
- Wymann, M. N., Flacio, E., Radczuweit, S., Patocchi, N. & Luthy, P. (2008) Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) - a threat for Switzerland? *Euro Surveill*, **13**.